

世代以上バッククロスを繰り返した。

2) グレリン欠損マウスの解析

遺伝的背景を C57BJ/6J にしたグレリン欠損マウスを使って、成長障害の有無、摂食障害の有無、身体・臓器の奇形の有無等を調べた。欠損マウスでの血中成長ホルモン濃度、他の血中ホルモン濃度を測定した。身長・体重の増加、摂食量などを測定し、グレリン欠損の影響を調べた。欠損マウスにおいて摂食と飲水の生体リズムを調べた。一日の決まった時間（9時から13時まで）だけ摂食を可能にした制限給餌を行って、摂食量を調べた。グレリン受容体が海馬にも存在することから、グレリンの記憶形成における役割が示唆されるので、欠損マウスにおいて記憶障害の有無を調べた。グルコース負荷による血糖値の変化や、肝臓における脂質代謝酵素の変動、視床下部におけるグレリン以外の摂食調節ペプチドの発現について調べた。

さらに非侵襲的な解析を行うために、埋め込み式の血圧測定器・体温測定器を用いて、1週間以上の長期間にわたり、血圧・心拍数・体温を連続測定した。

また消化管機能を調べるために、色素を含んだ餌を用いて胃排出能試験を行った。

（倫理面への配慮）

動物実験に際してはその愛護に留意し、投与実験や屠殺の際に苦痛を最小限にとどめるように十分配慮した。

C. 研究結果

1) グレリン欠損マウスにおける代謝・エネルギー調節関連の検討

摂食促進ホルモンのグレリンについて、グレリン欠損マウスを作製し、その遺伝的背景を C57BL/6J に整えた上で摂食行動などの解析を行った。

グレリン欠損マウスは致死性でなく、形態的な異常は見られない。野生型マウスとグレリン欠損マウスの比較において、体重と積算摂食量に差は認められず、摂食行動の日内リズムや、制限給餌による摂食量、餌探し課題による学習記憶能にも差は認められなかった。

一方、グルコース負荷試験においても野生型マウスとグレリン欠損マウスの間に血糖値の差は認

められなかった。絶食を行ない、肝臓のアセチル CoA カルボキシラーゼ、脂肪酸合成酵素、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼの遺伝子発現量を検討したが差は認められなかった。

このように、現在までに解析を進めた項目において、野生型マウスとグレリン欠損マウスに明確な差は認められなかった。一般にノックアウトマウスでは他の因子によって代償機構が働くことが考えられることから、現在さらなる検討を進めている。

2) グレリン欠損マウスにおける自律神経機能の検討

非侵襲的な解析を行うために、埋め込み式の血圧測定器・体温測定器を用いて、1週間以上の長期間にわたり、血圧・心拍数・体温を連続測定した。また胃排出能試験を行って消化管機能を調べた。

グレリン欠損マウスは血圧不安定、体温維持機構の異常、消化管運動の低下、血圧・体温の日内リズム異常など、自律神経系の異常を示す。予備的な研究からこの異常は視床下部や延髄を中心とした中枢性のものであることを確かめている。

中枢性摂食異常症の患者においては単に摂食障害だけでなく、その他の様々な異常を訴える。これらは血圧・体温・消化管機能などの自律神経系の異常が多く、今回のグレリン欠損マウスの表現型との関連が興味深い。

D. 考察

グレリン欠損マウスに関してはすでに米国のグループが欠損マウスの作製と表現型の解析を行っており、いくつかの論文も発表されている。しかし、いずれのグループも目立った表現型を観察していない。今回、我々はグレリン欠損マウスの遺伝的背景を C57BL/6J に整えた上で、詳細な表現型の解析を行った。その結果我々の検討でも、欠損マウスの体重、摂食量、行動に目立った変化はなかった。これはグレリンの摂食亢進作用の欠落を補うような機構が、生体内にあることを示している。つまり食欲の刺激はグレリンが単独で行っているのではなく、複数の因子が関与したものと考えられる。そのためグレリンが欠損しても、バックアップの因子がうまく食欲・摂食行動を調節し

て食欲の低下・消失を防止し、それによる栄養不良や死ぬことがないようにしていると考えられる。

一方、非侵襲的に血圧・心拍数・体温などの自律神経機能を調べた結果、グレリン欠損マウスは血圧不安定、体温維持機構の異常、消化管運動の低下、血圧・体温の日内リズム異常など、自律神経系の異常を示すことが明らかになった。

中枢性摂食異常症の患者においては単に摂食障害だけでなく、その他の様々な異常を訴える。これらは血圧・体温・消化管機能などの自律神経系の異常が多く、今回のグレリン欠損マウスの表現型との関連が興味深い。

E. 結論

グレリン欠損マウスの表現型を詳細に解析したところ、血圧・脈拍数・体温・消化管運動などの自律神経系の異常を見いだした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Kojima M, Ida T, Sato T. Structure of mammalian and nonmammalian ghrelins. *Vitam Horm*, 77: 31-46, 2007.
- ② Takahashi H, Kurose Y, Sakaida M, Suzuki Y, Kobayashi S, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Ghrelin differentially modulates glucose-induced insulin secretion according to feeding status in sheep. *J Endocrinol*, 194: 621-625, 2007.
- ③ Sato S, Hanada R, Kimura A, Abe T, Matsumoto T, Iwasaki M, Inose H, Ida T, Mieda M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Fujita T, Kato S, Kangawa K, Kojima M, Shinomiya K, Takeda S. Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nat Med*, 13: 1234-1240, 2007.
- ④ Kojima M. The discovery of ghrelin - A personal memory. *Regul Pept*, 145: 2-6, 2008.
- ⑤ Sato T, Kurokawa M, Nakashima Y, Ida T, Takahashi T, Fukue Y, Ikawa M, Okabe M,

Kangawa K, Kojima M. Ghrelin deficiency does not influence feeding performance. *Regul Pept*, 145: 7-11, 2008.

- ⑥ Miyazato M, Mori K, Ida T, Kojima M, Murakami N, Kangawa K. Identification and functional analysis of a novel ligand for G protein-coupled receptor, Neuromedin S. *Regul Pept*, 145: 37-41, 2008.
2. 学会発表
- ① 児島将康: 摂食調節ペプチド、グレリンの生理作用と臨床応用, 日本生化学会・中国四国支部会, 高知, 2007.
 - ② 児島将康: 摂食調節ペプチド、グレリンの生理作用と臨床応用, 第5回肝臓病研究会, 東京, 2007.
 - ③ 児島将康: Neuromedin U と摂食・肥満・炎症, 第34回日本神経内分泌学会, 前橋, 2007.
 - ④ 児島将康: 脂肪酸摂取によるグレリン産生の調節機構, 第12回アディポサイエンス研究会, 大阪, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

グレリン投与による慢性閉塞性肺疾患治療

分担研究者 永谷憲歳 国立循環器病センター研究所 再生医療部 部長

慢性閉塞性肺疾患（COPD）では呼吸機能の悪化のみならず、cachexiaが進行する。cachexiaとはがんやCOPDなどの慢性疾患において生じる体重減少、骨格筋量の減少、食欲不振により衰弱した状態をさし、COPDにおいては独立した予後規定因子となっているため、重症のCOPDの治療には呼吸機能の改善に加えcachexiaの是正が必要である。cachexiaを伴ったCOPD患者では、代償的に内因性のグレリンの産生が増加しているが、外因性のグレリンを補充することにより、成長ホルモン（GH）を介して、またグレリン独自の作用でCOPD患者の呼吸筋力や下肢筋力の改善およびエネルギー代謝の是正に働く可能性がある。我々はグレリンによるCOPD治療のパイロット臨床試験として、7人のCOPD患者に3週間のグレリン投与を行い、血清GH濃度の上昇、交感神経活性の抑制、摂食の促進、呼吸筋力の改善、運動耐容能の改善、エネルギー代謝の是正が確認された。またこれらの結果を踏まえ、cachexiaを伴うCOPD患者を対象に多施設二重盲検試験を開始し、グレリン投与の安全性および有効性の検討を開始した。

A. 研究目的

グレリンは(1)下垂体からの成長ホルモン（GH）分泌の促進、(2)交感神経抑制、(3)血管拡張・心拍出量増加、(4)摂食促進、(5)エネルギー代謝の調節などの生理活性を有することが明らかとなっている。一方、慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者においては、栄養障害を伴う体重減少を認めることが多く、低栄養状態（cachexia）は独立した予後因子となることが知られている。cachexiaとはがんやCOPDなどの慢性疾患において生じる体重減少、骨格筋量の減少、食欲不振により衰弱した状態をさし、米国においては500万人以上が罹患しているとされている。グレリンの生理活性を考えると、COPDに伴うcachexiaの是正にグレリンが有効である可能性がある。実際に慢性心不全患者10例に対しグレリンを投与したところ、エネルギー代謝改善効果が認められた。また、cachexiaを伴ったCOPD患者7例に対しパイロット臨床試験を行い、グレリンの安全性および有効性について検討したところ、血清GH濃度の上昇、交感神経活

性の抑制、摂食の促進、呼吸筋力の改善、運動耐容能の改善、エネルギー代謝の改善効果が認められた。

これらの結果をふまえ、グレリンのcachexiaに対する治療効果の検討および安全性の検証を目的として、多施設無作為化二重盲検比較試験を開始した。

B. 研究方法

1) 対象者の選択基準

- ①COPD患者（FEV1%<70%、%FEV1<50%）
- ②体重減少がある患者（BMI<21kg/m²）
- ③20歳以上85歳以下の患者
- ④その他

2) 臨床試験薬

実薬：合成ヒトグレリン（2μg/kg）+生理食塩水（10 mL）

偽薬：生理食塩水（10 mL）

3) 臨床試験の方法

対象患者にグレリン（実薬）もしくは生理食塩

水(偽薬)を1回あたり30分かけて1日に2回(朝食前と夕食前)、3週間の点滴投与を行う。薬剤の投与は入院後に行うこととし、また、全例に呼吸リハビリテーションを合わせて行う。グレリンの有効性を評価するために、投与の前後で①問診による自覚症状の調査、②静脈採血20 mL、③尿検査、④動脈採血、⑤呼吸機能検査、⑥摂食量の調査、⑦6分間歩行試験、⑧骨格筋量、骨量、脂肪量の測定、⑨24時間心電図、⑩運動負荷心肺機能試験、⑪握力測定、⑫呼吸筋力測定を行う。全ての評価は盲検下で行う。

4) 評価項目

○有効性の評価

主要項目：SGRQ (QOL score)

6分間歩行試験

副次項目：SF-36

MRC dyspnea scale

peak V02 (心肺運動負荷試験)

食事摂取量

VC

FEV1%

Maximal inspiratory pressure

Maximal expiratory pressure

血漿ノルアドレナリン濃度

5) 目標例数

実薬群、偽薬群をそれぞれ30例、合計60例

6) 臨床試験予定期間

2005年8月から2008年6月まで

(倫理面への配慮)

本臨床試験はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、臨床試験計画書を遵守し、各施設の倫理委員会による審査・承認のもと実施される。

C. 研究結果

現在までのところ、国立病院機構刀根山病院14例、奈良県立医科大学6例、宮崎大学7例の計27例の臨床試験が完了した。平均年齢74.1歳、BMI=18.5±1.8 (kg/m²)、FEV1%=36.6±7.3であった。自覚症状として胃腸の蠕動亢進感(3例)、口渇感(1例)、空腹感(3例)、ほかほか感(3例)、気分不良(1例)を認めた。また、試験薬投与後に有害事象として2例発生し(細菌性肺炎、抑うつ状態の増悪)、投与中止となったが、いずれも軽

症かつ速やかに改善した。その他臨床検査値異常として低蛋白血症(2例)、高脂血症(1例)を認めたが、いずれも投与終了後に速やかに改善した。

D. 考察

視床下部には摂食調節に関与する中枢核が存在し、そこには摂食促進に作用することで知られるニューロペプチドY (NPY) や agouti 関連タンパク質 (AgRP) を産生するニューロンも存在している。グレリン受容体も同じニューロンに発現しており、グレリンがNPY/AgRPニューロンを活性化して摂食を促進すると考えられている。胃から分泌されたグレリンは、迷走神経求心性ニューロンで産生され求心線維末端へ輸送されるグレリン受容体と結合し、迷走神経求心線維の電気活動を抑制する。この情報は延髄孤束核へ伝えられ、ニューロンを変えて視床下部のNPYニューロンとGHRHニューロンへ伝達され、摂食とGHの分泌がおこる。

cachexiaはCOPDの独立した予後規定因子であり、重症のCOPDの治療には呼吸機能の改善のみならずcachexiaの是正が必要である。グレリンは交感神経抑制、摂食促進、エネルギー代謝改善作用などの生理作用により、COPD患者の呼吸筋力や下肢筋力の改善およびエネルギー代謝の是正に働く可能性があり、重症COPD患者のcachexiaに対する新たな治療法として期待できる。

パイロット臨床試験によりCOPDに対するグレリン治療の安全性は確認できたため、有効性の確認について無作為化二重盲検比較試験を開始し、症例数を重ねて検討中である。現在までに計27例の臨床試験が完了したが、有害事象として細菌性肺炎と抑うつ状態の悪化を認め、試験薬の投与を中止した。二重盲検比較試験であるため実薬群であったかは明らかではないが、いずれの有害事象も軽症かつ速やかに改善しており、また安全評価委員会においてグレリンとの因果関係はないと判断された。

E. 結論

我々はcachexiaを伴うCOPD患者に対するグレリン投与の安全性、有効性を検討するため、多施設無作為化二重盲検比較試験を開始した。今後さらに症例を重ね、安全性および有効性について検

討する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① 大西俊介、寒川賢治、永谷憲歳：グレリンと心血管疾患，血管，30：7-10，2007.
- ② 大西俊介、永谷憲歳、寒川賢治：カヘキシアとグレリン，ペプチドと創薬、遺伝子医学MOOK，8：132-136，メディカルドゥ，2007.
- ③ 大西俊介、永谷憲歳、寒川賢治：グレリンの心血管系への作用，Annual Review 循環器，55-59，2007.
- ④ 大西俊介、永谷憲歳、寒川賢治：グレリン，日本臨床，65：186-190，2007.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし